

水稻对不同小种稻瘟菌抗性差异表达基因的鉴定

胡海燕¹ 庄杰云¹ 柴荣耀² 吴建利¹ 樊叶杨¹ 郑康乐^{1,*}

(¹ 中国水稻研究所 国家水稻改良中心/水稻生物学国家重点实验室, 浙江 杭州 310006; ² 浙江省农业科学院 植物保护与微生物研究所, 浙江 杭州 310021; * 通讯联系人, E-mail: zhengkangle@gmail.com)

Identification of Differentially Expressed Genes in Rice Plants Responded to Different Races of Blast Fungus

HU Hai yan¹, ZHUANG Jie yun¹, CHAI Rong yao², WU Jian li¹, FAN Ye yang¹, ZHENG Kang le^{1,*}

(¹ National Center for Rice Improvement/State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; ² Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China;

* Corresponding author, E-mail: zhengkangle@gmail.com)

Abstract: RNAs isolated from plants of a rice cultivar inoculated with two different races of the blast fungus were used to construct two cDNA libraries enriched for transcripts differentially expressed in incompatible/compatible interactions through suppression subtractive hybridization (SSH). After differential screening and RT-PCR based confirmation, twenty-five unique cDNA clones showing differentially expressions in incompatible/compatible interactions were sequenced. These cDNA clones were with known functions according to the putative functions of their homologous genes in the database. They might be involved in pathogen response, transcription, protein synthesis and protein fate etc. Expression profilings of the 25 cDNA clones at the early stages after inoculation were also revealed by RT-PCR. All of their expression levels were identical at 0 h of inoculation, followed by inducing or suppressing in the two interactions, indicating that the expression changes of these genes were solely due to different races of the pathogen and the reliability of the selected genes in the present experiment. It is also postulated that in rice *Magnaporthe grisea* interactions, the time points and levels of expressions of some defense related genes might determine the race specific resistances of the host.

Key words: *Magnaporthe grisea*; incompatible/compatible host pathogen interactions; suppression subtractive hybridization; rice

摘要: 以同一水稻品种接种不同小种稻瘟菌, 利用抑制消减杂交(SSH)技术构建水稻-稻瘟菌非亲和/亲和互作消减cDNA文库。经差异筛选、序列分析及RT-PCR验证, 共获得25个独立的差异表达cDNA克隆。根据与它们同源基因的功能推测, 这些cDNA克隆可能参与了对病原菌的防卫反应、转录和蛋白合成与修饰等一些重要的生物学过程。通过RT-PCR检测了差异表达基因在非亲和/亲和互作早期的表达谱, 所有被检测基因在非亲和/亲和互作零点的表达水平均相同, 而在接种后的其他时间点, 它们的表达在互作反应中或被诱导或被抑制, 说明这些表达的变化仅仅与接种的不同小种有关, 肯定了所分离到的基因及其表达变化的可靠性。受不同小种病原菌侵染后, 由于一些参与防卫反应的基因被诱导或被抑制的程度和持续时间的不同可能导致水稻小种特异的抗性。

关键词: 稻瘟病; 非亲和/亲和互作; 抑制消减杂交; 水稻

中图分类号: Q943; S435.111.4+1; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2007)01-0001-06

稻瘟病是由子囊菌 *Magnaporthe grisea* 引起的水稻重要病害之一, 也是植物真菌病理学研究的模式体系^[1]。近年来, 对于水稻-稻瘟菌互作机制的研究有了显著的进展。在水稻中已克隆了抗稻瘟病的主效基因 *Pi b*^[2]、*Pi ta*^[3]和 *Pi 9*^[4], 对它们生物学功能的深入分析发现这些基因在寄主-病原菌特异识别中起关键作用。已在水稻中克隆和鉴定了多个防御稻瘟病菌侵染的防卫反应基因, 如 - 羟基 - 甲基戊二醛辅酶及还原酶(HMGR)基因^[5]、苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因^[6]及几丁质酶基因^[7]。此外, Peng等^[8]克隆了一个水稻对稻瘟病的防卫基因, 编码脂氧合酶, 该基因与小种特异性抗性有关。

抑制消减杂交(suppression subtractive hybrid-

ization, SSH)是用于鉴定在 mRNA 水平上的差异表达基因的一种方法。该法将抑制 PCR 和消减杂交相结合, 有选择地扩增差异表达基因并抑制非目的基因的扩增^[9]。利用该技术已成功地鉴定了一些参与水稻防御稻瘟病的防卫基因^[10-11], 但是这些研究都是针对不同水稻品种/品系材料与同一稻瘟菌小种之间的应答反应。而同一水稻材料与不同稻瘟菌小种之间互作反应中差异表达基因的研究还未

收稿日期: 2006-07-07; 修改稿收到日期: 2006-08-07。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270715); 浙江省科技项目(2005C24007)。

第一作者简介: 胡海燕(1973-), 女, 博士研究生。

见报道。在本研究中,我们利用 SSH 从 1 个具有病原菌小种特异抗性的水稻品种中 156 的植株中,分离鉴定水稻与非亲和/亲和小种稻瘟菌互作中差异表达的基因,分析了这些基因在非亲和/亲和互作中的表达谱,对可能引起病原菌小种特异抗性的分子机理进行了分析。

1 材料与方法

1.1 水稻材料及稻瘟菌接种

中 156 是中国水稻研究所育成的一个高产籼稻品种^[12],该品种在苗期对不同小种稻瘟菌的抗性不同。在前期工作中,已经明确该品种抗小种 ZC₁₅,表现为非亲和互作,而小种 ZB₁能使它感病,表现为亲和互作。

用于接种的稻瘟菌株为 92 183(ZC₁₅)和 99 30 1(ZB₁),分生孢子培养和接种在浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所进行。分生孢子接种浓度为 $(2 \sim 5) \times 10^5$ 个/mL,添加 0.2% Tween 20,在水稻苗期 4 周龄喷雾接种。在接种病原菌后不同时间 (0、6、12、24、48 和 72 h) 采收叶片,在液氮中速冻,保存于 -80 °C 冰箱。

1.2 抑制消减 cDNA 文库的构建和差异筛选

将接种稻瘟病菌 ZC₁₅ 小种后 6、12、24、48 和 72 h 的总 RNA 等量混合,构成非亲和互作 RNA 池;将接种稻瘟病菌 ZB₁ 小种后 6、12、24、48 和 72 h 的总 RNA 等量混合,构成亲和互作 RNA 池,分别进行 mRNA 分离,用于构建抑制消减 cDNA 文库。总 RNA 的提取和 mRNA 的分离分别利用 Trizol (Invitrogen) 试剂和 Micro FastTrack 2.0 Kit (Invitrogen) 并根据试剂盒推荐步骤进行操作。

抑制消减 cDNA 文库的构建和差异筛选参照本实验室已建立的方法^[13]。采用 PCR Select cDNA Subtraction Kit (Clontech),构建两个不同的 SSH cDNA 文库。第 1 个文库即正向文库,以非亲和 mRNA 池作为实验组 (tester),亲和 mRNA 池作为对照组 (driver);第 2 个文库为反向文库,利用亲和 mRNA 作为实验组,非亲和 mRNA 作为对照组。

将经 PCR 扩增的文库克隆插入 cDNA 片段,以阵列方式固定在尼龙膜上,分别用 SSH 中的正向和反向经 PCR 扩增的消减和未消减实验组和对照组 cDNA 为探针,进行反向 northern 杂交,选取同时与消减和未消减的实验组和对照组 cDNA 探针杂交信号呈现明显差异的克隆进行分析。

1.3 cDNA 序列测定及 BLAST 同源性分析

经差异筛选出的克隆用 M13 通用引物进行双向测序,序列测定在浙江大学生物技术研究所进行。测得序列去除载体和接头序列,提交 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 数据库用 BLASTX 和 BLASTN 进行序列同源性搜索。

1.4 差异表达基因的 RT-PCR 分析

参照本实验室已建立的方法^[13],以水稻 *actin* 基因作为内参,采用 RT-PCR 方法分析差异筛选结果,分别将用于 SSH 的非亲和互作 mRNA 池和亲和互作 mRNA 池,用于 cDNA 第一链合成,用 M-MLV (Promega) 反转录酶进行反转录。根据测得序列,用引物设计软件 DNAMAN 的 PRIMER DESIGN 程序设计 PCR 引物,并由上海生工生物工程技术有限公司合成。然后,将经 RT-PCR 证实的差异表达基因,分别用接种稻瘟菌非亲和小种和亲和小种后 0、12、24、48 和 72 h 的总 RNA,进行 RT-PCR 表达谱分析。

2 结果与分析

2.1 消减 cDNA 文库的构建和差异筛选

以非亲和互作 mRNA 池和亲和互作 mRNA 池为材料,利用 SSH 技术构建了正向和反向两个消减 cDNA 文库。对随机挑选的 1152 个文库克隆 (正向文库和反向文库各 576 个),经差异筛选、序列测定,并去除重复克隆后,共有 46 个单一克隆同时与消减和未消减的实验组和对照组探针杂交后信号强度呈现明显差异,其中 26 个克隆与实验组 cDNA 杂交的信号明显比与对照组 cDNA 杂交的信号强,而 20 个克隆与对照组 cDNA 杂交的信号明显强于与实验组 cDNA 杂交的信号。

为进一步验证筛选到的 cDNA 克隆在接种非亲和/亲和小种后的差异表达,以非亲和互作 mRNA 池和亲和互作 mRNA 池为模板,对这些基因进行 RT-PCR 分析,最终有 25 个基因在接种不同稻瘟菌小种后的表达存在差异,除 *RF02* 和 *RG02* 在非亲和中的诱导比亲和互作中强烈外,其余基因的表达趋势与差异筛选结果一致。

2.2 筛选的差异表达基因 BLAST 搜索与功能分类

为获得 25 个差异表达基因的功能信息,将它们的序列提交 NCBI 数据库,进行 BLAST 同源性搜索,并按 MIPS (Munich Information Center for Protein Sequences) 分类系统将注释基因归为 8 类,结果总结在表 1 中。

表 1 水稻 稻瘟菌非亲和/亲和互作中筛选到的差异表达基因及其 BLAST 搜索结果

Table 1 Identified differentially expressed clones of incompatible and compatible interactions between rice and *M. grisea* and BLAST search results.

克隆号 ¹⁾ Clone No. ¹⁾	功能注释 Annotation	E 值 E-value	同源性 ²⁾ Sequence identity ²⁾ / %	诱导 ³⁾ Induction ³⁾	
				S	R
细胞拯救、防御、毒性 Cell rescue, defense and virulence					
FA05	含相似于富含芳香族的糖蛋白 Contains similarity to aromatic rich glycoprotein (AAP53713 .1)	4e 11	96	+	++
FB06	推测的过氧化氢酶 Putative catalase (AAQ19030 .1)	1e 33	90	-	+
FE03	第 1 类金属硫蛋白 Metallothionein like protein type 1 (AAX95268 .1)	2e 07	95	+	++
转录 Transcription					
FA11	RRM RNA 结合蛋白 RRM containing RNA binding protein like (BAD72175 .1)	4e 17	46	+	++
FD01	推测的 G box 结合因子 Putative G box binding factor (AAU10677 .1)	5e 08	93	-	-
RF09	类锌指蛋白 Zinc finger protein like (BAB89083 .1)	7e 25	90	N	-
RG03	RNA 聚合酶 RNA polymerase beta (NP_039373 .1)	1e 32	67	N	-
蛋白合成/蛋白命运(折叠、修饰、定位) Protein synthesis /protein fate (folding, modification, destination)					
FB10	推测的 poly (A) 结合蛋白 Putative poly (A) binding protein (XP_450039 .1)	9e 31	79	-	+
FD05	遍在载体蛋白 Ubiquitin carrier protein (XP_469945 .1)	7e 45	100	-	+
RE06	60S 核糖体蛋白 L2 60S ribosomal protein L2 (AAF85800 .1)	6e 24	100	-	+
RG11	推测的 Bowman Birk 色氨酸蛋白酶抑制剂 Putative Bowman Birk serine protease inhibitor (NM_185157 .1)	1e 30	98N	-	N
新陈代谢/能量 Metabolism/energy					
FA02	推测的叶绿素 a/b 结合蛋白前体 Putative chlorophyll a/b binding protein precursor (XP_482572 .1)	1e 59	100	-	-
FC06	果糖-二磷酸醛缩酶 1 Fructose biphosphate aldolase 1 (AA X95073 .1)	9e 76	89	-	N
FC09	甘氨酸脱氢酶 P 蛋白 Glycine dehydrogenase P protein (AAQ24377 .1)	1e 64	79	-	N
RF02	推测的胞苷脱氨酶 Putative cytidine deaminase (AAN40022 .1)	1e 14	100	+	++
信号传导机制 Signal transduction mechanism					
FA10	推测的细胞色素 2 Putative cryptochrome 2 (XM_466830 .1)	2e 94	94N	+	+
RF11	假定的 OrniCp102 蛋白 Hypothetical protein OrniCp102 (YP_052828 .1)	7e 35	100	N	-
细胞运输/细胞成分生成 Cellular transport/biogenesis of cellular components					
FA03	推测的富含甘氨酸细胞壁结构蛋白前体 Putative glycine rich cell wall structural protein precursor (XP_478711 .1)	4e 04	58	+	++
FB03	铁氧还蛋白 I Ferredoxin I (XP_479678 .1)	3e 19	100	-	+
转座元件、病毒和质粒蛋白 Transposable elements, viral and plasmid proteins					
RG07	反转座子蛋白(推测的 Ty3 gypsy 亚基) Retrotransposon protein, putative, Ty3 gypsy sub class (AAX95933 .1)	3e 16	93	+	-
RG10	转座蛋白(推测的 CACTA, En/Spm) Transposon protein, putative, CACTA, En/Spm (AAP52384 .1)	2e 10	86	+	-
未知功能蛋白 Unknown					
FA06	P0684C02.5 (NP_915761 .1)	3e 45	98	+	++
RF05	P0455H0310.30 (NP_918642 .1)	2e 07	83	+	-
RF08	鞭毛蛋白 Putative fimbriata (BAD88307 .1)	2e 15	100	-	N
RG02	未知蛋白 Unknown protein (NP_911279 .1)	6e 19	62	+	++

1) 表中克隆号以 F 开头的为从正向文库中选到的, 以 R 开头的为从反向文库中选到的;

2) 序列同源性是指在蛋白质水平上的同源, 其中标有“N”的为核酸序列的同源;

3) 诱导分析: S - 亲和互作; R - 非亲和互作; “+”被诱导; “-”被抑制; “N”不变化; “++”被强烈诱导; “--”被强烈抑制。

1) The clones beginning with an “F” are from the forward subtractive cDNA library and with an “R” are from the reverse subtractive cDNA library;

2) The sequence identities are at amino acid level, with “N” are at nucleic acid level;

3) Induction: R is in incompatible interaction; S is in compatible interaction; “+” means induced; “-” means suppressed; “N” means no change; “++” means highly induced; and “--” means highly suppressed.

其中,除了 RE06 和 RF02 分别在烟草和玉米中搜索出同源基因外,其余 cDNA 克隆都在水稻中搜索到同源基因,且具有较高的同源性。为了分析这些克隆是否来源于稻瘟菌基因组,将这些克隆的

序列提交稻瘟菌数据库进行相似性搜索,没有发现一个序列与真菌序列同源。

基因功能分析显示,这些差异表达基因涉及到细胞拯救与防御、转录、蛋白合成、新陈代谢、信号传

导以及转座等生物学过程。其中,大部分基因在非亲和互作中被强烈诱导,而在亲和互作中被抑制。值得注意的是,与蛋白合成和蛋白命运(折叠、修饰、定位)有关的蛋白在非亲和互作中被诱导,而在亲和互作中都被抑制,而参与转座的基因却呈现相反的诱导趋势。

2.3 鉴定的差异基因在非亲和/亲和互作中的表达谱分析

通过 RT-PCR,分析了这 25 个差异表达基因在非亲和互作和亲和互作中不同时间点的表达谱,部分结果如图 1 所示。所有被检测基因在非亲和/亲和互作 0 h 的表达水平均相同,而在其他时间点,它们在互作反应中或被诱导或被抑制,表达发生变化的趋势与差异筛选的结果相一致。

通过 RT-PCR 分析,根据被诱导或抑制的异同以及表达量的差异,可以将这些基因分为 6 类。第 1 类,如 *FA03* 和 *RF02*,在受到稻瘟菌侵染后的两种互作中都被诱导表达,但在非亲和互作中的诱导明显比亲和互作中强烈,这类基因数目最多,共 8 个;第 2 类在两种互作中都被抑制,但在亲和互作中抑制较强烈,如 *FC09*;又如 *FB03* 和 *FB06*,在亲和互作中表达被抑制,而在非亲和互作中被诱导,归为第 3 类;第 4 类,如 *RF11*,在亲和互作中表达不发生明显的变化,但在非亲和互作中的表达明显受到抑

制,而非亲和互作中先被诱导后又被抑制,但在亲和互作中明显被抑制的基因,如 *FD01*,归为第 5 类;第 6 类基因在亲和互作中被诱导而在非亲和互作中被抑制,如 *RG07*。

同时,从 RT-PCR 分析可以发现,在接种稻瘟菌后,大多数基因的表达在 12 h 开始发生变化,如 *FA03*,接种后 12 h 在两种互作中都被诱导,只是诱导程度不同;*FB03*,接种后 12 h 在非亲和互作中被诱导,而在亲和互作中被抑制;也有一些基因在非亲和与亲和互作中表达变化持续的时间不同,如 *RF02* 和 *FB06*,在接种非亲和小种 ZC₁₅ 后 12 h 即被强烈诱导,直到 48 h 有所恢复,72 h 又被诱导,而在接种亲和小种稻瘟菌 ZB₁ 后 24 h 被诱导,72 h 又被强烈抑制;又如 *FD01*,在非亲和互作中 12 h 被诱导,直到 48 h 才有所抑制,72 h 表达量又有上升,而在亲和互作中 12 h 和 72 h 完全被抑制;特别值得注意的是 *RF11* 和 *RG07*,在非亲和互作中 12 h 开始被抑制,直到 48 h 才有所恢复,而在亲和互作中的表达变化不明显或被诱导。

从以上表达谱分析结果得出:第一,在接种不同小种稻瘟菌后,大部分被筛选到的差异表达基因被诱导或被抑制,但它们在非亲和/亲和互作中的诱导或抑制的程度不同;一些基因受非亲和小种的诱导,受亲和小种的抑制,而另一些基因呈现相反的诱导趋势。第二,这些差异表达基因接种稻瘟菌后,12 h 开始被诱导或抑制,但大多数基因受非亲和小种的诱导直到 72 h 仍在持续,与在亲和互作中存在明显的差异。

3 讨论

本研究从构建的两个 SSH cDNA 文库中通过差异筛选、RT-PCR 验证、序列测定和生物信息学功能分析,最终筛选到 25 个在水稻稻瘟病菌非亲和与亲和互作中差异表达的基因。根据与它们同源的基因推测,这些基因可能参与了病原菌和环境胁迫防御反应、转录、蛋白合成与修饰、新陈代谢、信号传导等生物学过程,这与前人研究的结果一致^[10,14,15]。一些基因已有报道与稻瘟病防卫反应有关,如编码 RRM-RNA 结合蛋白的 *FA11*、锌指蛋白的 *RF09*^[16,17],锌指蛋白基因家族常常编码如转录因子等信号传导物质,对调节蛋白的表达起重要作用^[18,19],还有报道锌指蛋白与细胞的程序化死亡有关^[20,22];编码 Bowman-Birk 蛋白酶抑制剂 (RBBI) 的 *RG11*,有研究表明,在水稻体内存在带有

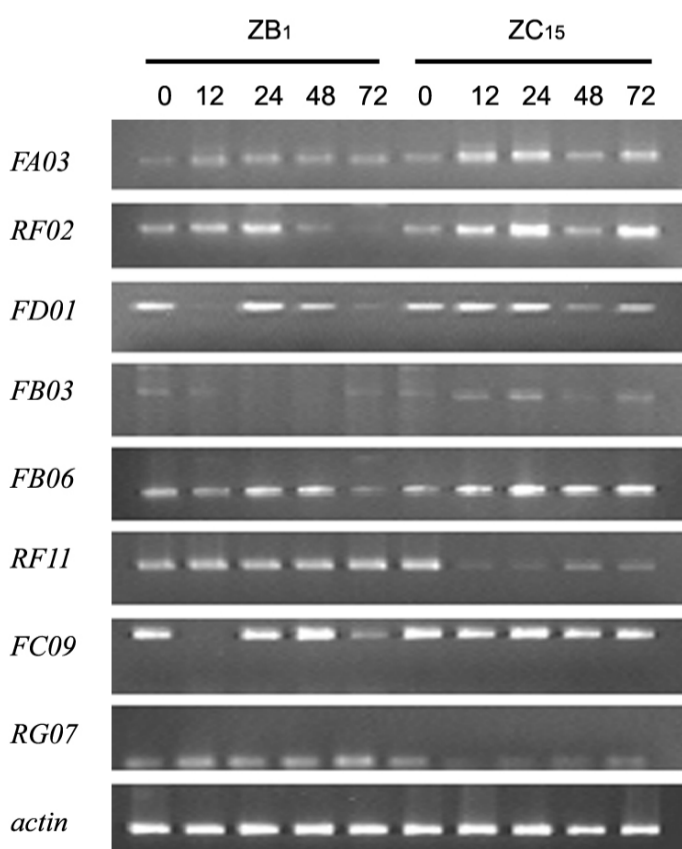


图 1 差异表达基因在水稻稻瘟菌非亲和/亲和互作中的表达谱

Fig. 1 RT-PCR based profilings of some selected differentially expressed clones in incompatible/compatible interactions between rice and *M. grisea*.

3 个同源结构域的 RBBI 受发育和伤害调控^[23]；已有报道蛋白酶抑制因子在抗病植株中的表达受稻瘟菌强烈诱导^[11]；*FA03* 编码铁氧还蛋白的基因，铁氧还蛋白参与防御氧胁迫^[24]，植物在受病原菌侵染早期，在过敏反应过程中快速产生并大量积累活性氧物质^[25]。然而，一些基因还未见报道与抗稻瘟病有关，但它们的表达的确受稻瘟菌的诱导或抑制，而且在非亲和互作与亲和互作中的表达存在差异，如 *FA03* 和 *RG07* 等，它们在植物-稻瘟菌互作中的具体生物学功能值得进一步研究。

在前人的研究中，所用的材料限于近等基因系或突变体，应用不同的水稻材料与同一病原菌小种之间的非亲和/亲和互作展开研究，而本研究则应用同一水稻品种与不同的稻瘟菌小种之间的非亲和/亲和互作，鉴定和分离差异表达的基因。用不同小种的菌种接种同一品种，保证了寄主材料遗传上的完全一致，在接种后寄主体内基因表达的差异，仅与病原菌小种的差异有关。在本研究中，对分离到的差异表达基因进行 RT-PCR 表达谱分析，所有被检测基因在非亲和/亲和互作 0 h 的表达水平均相同，而在接种后的其他时间点，它们的表达在互作反应中或被诱导或被抑制，说明这些表达的变化仅仅与接种的不同小种有关，肯定了所分离到的基因以及这些基因的表达变化是可靠的。

本研究结果表明，一方面，水稻在受到稻瘟菌的侵袭过程中，无论是非亲和小种或亲和小种都诱导植株体内防卫反应相关基因的表达发生变化，但变化程度有所不同。如在 25 个差异表达基因中有 8 个都被诱导，但在非亲和互作中诱导明显比亲和互作强烈，2 个基因的抑制在亲和互作中比在非亲和互作中强烈。还有一些基因受非亲和/亲和小种诱导后呈相反的变化趋势，如参与蛋白合成与修饰的基因在非亲和互作中被诱导，而在亲和互作中被抑制，参与转座的基因被亲和小种诱导，却被非亲和小种抑制。前人也有研究表明，在水稻-稻瘟菌互作中许多与防卫反应有关的基因在亲和互作中受病原菌的诱导也发生变化^[26]。而通过对拟南芥防卫细菌性病原菌反应过程中基因表达的研究认为，非亲和互作和亲和互作的分子机制是相似的，但由于受侵染早期基因表达量的差异导致植株表现出不同的抗性反应^[27]。

另一方面，接种不同小种稻瘟菌后 12 h，防卫反应相关基因的表达开始发生变化，但大多数基因的诱导在 72 h 的非亲和/亲和互作中仍然存在，较

亲和互作中的诱导持续的时间要长。Jantasuriyarat 等^[14] 研究水稻-稻瘟菌互作中的基因表达表明，接种稻瘟病菌后 24 h 基因在抗病反应和感病反应中的表达都发生了明显的变化。Caldo 等^[28] 在对大麦与白粉病菌互作过程中基因在非亲和互作和亲和互作中表达变化的研究表明，参与防卫反应的基因在接种病菌后 16 ~ 32 h 发生显著变化，而且，大多数基因在亲和互作中被抑制，认为特异抗性是由于植物与病原菌之间的识别以及病原菌对基础防御的抑制受到了妨碍而产生的结果。

由以上分析推测，植物无论在受到病原菌非亲和小种或亲和小种侵袭后，参与防卫反应的基因的表达都发生变化，或被诱导或被抑制，但可能由于这些基因被诱导的程度、诱导持续的时间的差异而导致植物对不同病原菌小种产生特异抗性。

谢辞：浙江大学生物技术研究所董海涛博士帮助差异克隆的序列测定，特此致谢！

参考文献：

- [1] Valent B. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology*, 1990, 80: 35-36.
- [2] Wang Z X, Yano M, Yamanouchi U, et al. The *Pi-b* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine rich repeat class of plant disease resistance genes. *Plant J*, 1999, 19 (1): 55-64.
- [3] Bryan G T, Wu K S, Farraill L, et al. A single amino acid difference distinguishes resistance and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pita*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2033-2045.
- [4] Qu S D, Liu G F, Zhou B, et al. The broad spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes an NBS LRR protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics*, 2006, 172 (3): 1901-1914.
- [5] Nelson A J, Doerner P W, Zhu Q, Lamb C J. Isolation of a monocot 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene that is elicitor-inducible. *Plant Mol Biol*, 1994, 25(3): 401-412.
- [6] Zhu Q, Dabi T, Beeche A, et al. Cloning and properties of a rice gene encoding phenylalanine ammonia-lyase. *Plant Mol Biol*, 1995, 29(3): 535-550.
- [7] Zhu Q, Doerner P W, Lamb C J, et al. Stress induction and developmental regulation of a rice chitinase promoter in transgenic tobacco. *Plant J*, 1993, 3: 203-212.
- [8] Peng Y L, Shirano Y, Ohta H, et al. A novel lipooxygenase from rice: Primary structure and specific expression upon incompatible infection with rice blast fungus. *J Biol Chem*, 1994, 269(5): 3755-3761.

- [9] Diatchenko L, Chris Lau Y F, Campbell A P, et al. Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue specific cDNA probes and libraries. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 6025-6030.
- [10] Lu G, Jantasuriyarat C, Zhou B, Wang G L. Isolation and characterization of novel defense response genes involved in compatible and incompatible interactions between rice and *Magnaporthe grisea*. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 525-534.
- [11] Han C U, Lee C H, Jang K S, et al. Identification of rice genes induced in a rice blast resistant mutant. *Mol Cells*, 2004, 17(3): 462-468.
- [12] 吴梦岚, 赵美玲, 李西明, 等. 高产早粳中 156 的选育. 北京: 中国农业科技出版社, 1992: 19-20.
- [13] Hu H Y, Zhuang J Y, Chai R Y, et al. Isolation and characterization of defense response genes involved in neck blast resistance of rice. *Acta Genet Sin*, 2006, 33: 251-261.
- [14] Jantasuriyarat C, Gowda M, Haller K, et al. Large scale identification of expressed sequence tags involved in rice and rice blast fungus interaction. *Plant Physiol*, 2005, 138: 105-115.
- [15] 饶志明, 董海涛, 庄杰云, 等. 水稻稻瘟病菌胁迫应答 cDNA 片段的表达及定位. 中国水稻科学, 2003, 17(2): 105-108.
- [16] Xiong L, Lee M W, Qi M, Yang Y. Identification of defense related rice genes by suppression subtractive hybridization and differential screening. *MPMI*, 2001, 14(5): 685-692.
- [17] 饶志明, 董海涛, 庄杰云, 等. 水稻抗稻瘟病近等基因系的 cDNA 微阵列分析. 遗传学报, 2002, 29(10): 887-893.
- [18] Risjtpm P J, Somssich I E. Transcriptional control of plant genes responsive to pathogens. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, 1: 311-315.
- [19] Klug A. Zinc finger peptides for the regulation of gene expression. *J Mol Biol*, 1999, 293: 215-218.
- [20] Epple P, Mack A A, Morris V R F, Dangl J L. Antagonistic control of oxidative stress induce cell death in *Arabidopsis* by two related, plant specific zinc finger proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(11): 6831-6836.
- [21] Dietrich R A, Richberg M H, Schmide R, et al. A novel zinc finger protein is encoded by the *Arabidopsis LSD1* gene and functions as a negative regulator of plant cell death. *Cell*, 1997, 88(5): 685-694.
- [22] Wang L J, Pei Z Y, Tian Y C, et al. OsLSD1, a rice zinc finger protein, regulates programmed cell death and callus differentiation. *MPMI*, 2005, 18(5): 375-384.
- [23] 陈军, 毛盛勤, 谢阳, 等. 水稻中一个 25 kD Bowman-Birk 蛋白酶抑制剂的表达和抑制活性分析. 科学通报, 2005, 50(22): 2501-2508.
- [24] Krapp A R, Tognetti V B, Carrillo N, et al. The role of ferredoxin NADP⁺ reductase in the concerted cell defense against oxidative damage studies using *Escherichia coli* mutants and cloned plant genes. *Eur J Biochem*, 1997, 249: 556-563.
- [25] Dangl J L, Jones J D. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. *Nature*, 2001, 411: 826-833.
- [26] Kim S, Ahn I P, Lee Y H. Analysis of genes expressed during rice *Magnaporthe grisea* interactions. *MPMI*, 2001, 14(11): 1340-1346.
- [27] Tao Y, Xie Z, Chen W, et al. Quantitative nature of *Arabidopsis* responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plant Cell*, 2003, 15: 317-330.
- [28] Caldo R A, Nettleton D, Wise R. Interaction dependent gene expression in *Mla* specified response to barley powdery mildew. *Plant Cell*, 2004, 16: 2514-2528.